



УДК 616.314.17:616.311.2

## Иммуногистохимическое исследование слизистой оболочки десны при хроническом воспалительном процессе в пародонте у лиц молодого возраста

**И.Н. УСМАНОВА, Л.П. ГЕРАСИМОВА,  
М.Ф. КАБИРОВА, А.И. ЛЕБЕДЕВА, И.Р. УСМАНОВ**

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа  
Всероссийский центр глазной и пластической хирургии, г. Уфа

### Усманова Ирина Николаевна

кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапевтической стоматологии с курсом ИПО  
450000, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3  
тел. 8-917-349-77-93, e-mail: irinausma@mail.ru

*С использованием иммуногистохимического метода были изучены морфофункциональные изменения тканей десны у лиц молодого возраста, проживающих в Башкортостане. Установлено, что при хроническом генерализованном гингивите выявлены выраженные морфологические изменения в гемокapиллярах сосочкового слоях собственной пластинки десны вследствие гипоксии, вызванной микробной обсемененностью полости рта. При хроническом генерализованном пародонтите выявлена усиленная пролиферативная активность клеток базального и шиповатого слоев эпителия.*

**Ключевые слова:** хронический генерализованный гингивит, хронический генерализованный пародонтит, лица молодого возраста, неблагоприятные факторы окружающей среды, иммуногистохимический метод.

## Immunohistochemical study of gingiva mucous coat in case of chronic inflammatory process of parodontium in young individuals

**I.N. USMANOVA, L.P. GERASIMOVA, M.F. KABIROVA,  
A.I. LEBEDEVA, I.R. USMANOV**

Bashkir State Medical University, Ufa  
Russian Eye and Plastic Surgery Center, Ufa

*With the use of immunohistochemical method were studied morphofunctional changes of gingival tissue of young individuals living in the Republic of Bashkortostan. It has been established that in case of chronic generalized gingivitis were revealed apparent structural changes in hemocapillars of papillary layer of lamina propria, as a consequence of hypoxia caused by bacterial content in mouth cavity. In case of chronic generalized periodontitis was revealed intense proliferative cells' activity of basal and spinous layer of epithelium.*

**Key words:** chronic generalized gingivitis, chronic generalized periodontitis of young individuals, hazardous environment, immunohistochemical method.

В настоящее время диагностика и лечение воспалительных заболеваний пародонта представляют наиболее сложную и актуальную проблему, которая приобрела не только медицинскую, но и социальную значимость. Это обусловлено прежде всего широкой распространенностью и интенсивностью поражения [1, 2]. Традиционные методические подходы до настоящего времени не позволили сформировать единого мнения об особенностях развития патологического процесса, вследствие чего до настоящего времени отсутствует общепризнанная классификация заболеваний пародонта. Возможно, это связано с тем, что основы классификационных схем базировались либо на клиническом, либо на этиологическом или на морфологическом аспектах. В то же время для понимания этиологии и патогенетических моментов этого патологического процесса необходимо учитывать все его стороны: этиологическую, клиническую, морфологическую, а также иммуноморфологическую. Применение иммуногистохимических методов исследования позволяет

охарактеризовать особенности изменений метаболизма клеток и тканей органов уже на ранних стадиях патологического процесса, при отсутствии выраженных клинических проявлений [3, 4].

**Целью исследования** явилось изучение иммуногистохимических изменений в тканях десны при хроническом генерализованном гингивите и пародонтите у лиц молодого возраста.

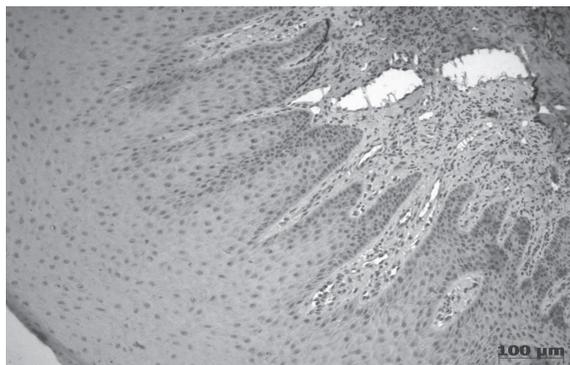
### Материал и методы

Нами проведено комплексное стоматологическое обследование 660 лиц молодого возраста от 15 до 23 лет, проживающих в Башкортостане.

Состояние тканей пародонта оценивали по клиническим методикам, в рамках которого выясняли жалобы, анамнез и наличие сопутствующих заболеваний. Для количественной оценки уровня гигиены полости рта использовали гигиенический индекс по Грин-Вермильону (Greene J.C., 1964). Наличие, распространенность и глубину воспалительного процесса в десне оценивали по

**Рисунок 1.**

**Хронический генерализованный катаральный гингивит. Экспрессия PCNA клетками базального слоя. Иммуногистохимическая реакция на PCNA. Докраска гематоксилином**



индексу РМА (Parma С., 1960). Диагностику клинически интактного пародонта проводили у лиц с отсутствием кровоточивости, над- и поддесневых зубных отложений, на ортопантограмме не наблюдалось деструкции и очагов остеопороза, кортикальная пластинка сохранена на всем протяжении.

Работа была выполнена на базе отдела морфологии Всероссийского центра глазной и пластической хирургии МЗ РФ (зав. отделом — д.м.н., профессор Муслимов С.А.). Для гистологического исследования биопсийные кусочки фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и после обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации заливали в парафин по общепринятой методике. Выполнено иммуногистохимическое исследование 88 биоптатов мягких тканей десны, полученных при удалении зубов по ортодонтическим показаниям, на основании информированного согласия. Из них 18 было взято у пациентов с клинически интактным пародонтом, 50 — у пациентов с хроническим генерализованным гингивитом, 20 — у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. Иммуногистохимические исследования проводили с помощью непрямого стрептовидин — биотинового метода на серийных парафиновых срезах толщиной 5 мкм с минимальной площадью 1 см<sup>2</sup>. Использовались моноклональные антитела к TGF- $\beta$ 1 — transforming growth factor — beta 1 (трансформирующий фактор роста- $\beta$ 1), PCNA — Proliferative Cells Nuclear Antigen (ядерный антиген пролиферирующих клеток) (фирмы Santa Cruz Biotechnology, Inc., 1999-2002). Микроскопические исследования проводились с использованием лазерного сканирующего конфокального микроскопа LSM 5 PASCAL фирмы «CARL ZEISS» (Германия).

#### Результаты исследования и их обсуждение

По данным иммуногистохимических исследований биоптатов десны с клинически диагностированным хроническим генерализованным катаральным гингивитом только эпителиоциты базального слоя были PCNA-положительные (рис. 1). Известно, что PCNA экспрессируется клетками, находящимися в S-фазе клеточного цикла и свидетельствует об их интенсивном размножении [5]. Также известно, что ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA) в интерфазных ядрах встречается при репаративном синтезе ДНК после повреждения клеток [6, 7]. Наличие антигена PCNA только в клетках базального слоя указывает о сохранении адекватной физиологической функции эпителия.

При иммуногистохимическом исследовании PCNA данный антиген в строме экспрессировался в основном эндотелиальными клетками сосудов, пронизывающих сосочковый слой собственной пластинки (рис. 2). Следовательно, пролиферативная активность клеток внутренней

оболочки сосудов свидетельствовала об их новообразовании и являлась признаком компенсаторной реакции при развившейся гипоксии, вызванной микробными агентами [4].

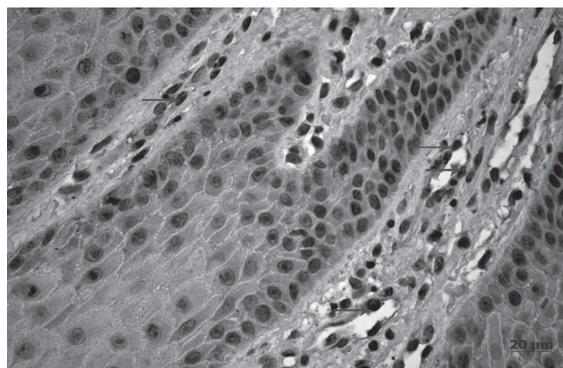
При иммуногистохимическом исследовании тканей десны с хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести выявлялась усиленная пролиферативная активность клеток эпителия. PCNA обнаруживался в ядрах клеток не только базального, но и шиповатого слоев (рис. 3). Следовательно, повышение синтетической активности данных клеток в биоптатах больных являлась проявлением компенсаторно-приспособительных механизмов эпителиальной ткани за счет нарушения микроциркуляции стромы. Митотический индекс эпителиоцитов (PCNA) может свидетельствовать о состоянии барьерной функции десны. Гипертрофия росткового слоя эпителия служит показателем степени тяжести воспалительного процесса, вызванного микробными агентами.

Противовоспалительный цитокин TGF- $\beta$ 1 экспрессировался клетками соединительной ткани. Причем интенсивность выделения напрямую зависела от степени повреждения и от стадии воспаления. Так, наименьшее его количество выявлялось при хроническом гингивите в начальной стадии заболевания в экссудативную стадию воспаления и в основном клетками макрофагального ряда (рис. 4), а наиболее интенсивно трансформирующий фактор роста —  $\beta$ 1 секретируался в пролиферативной стадии воспаления следующими клетками: макрофагами, плазмócитами, фибробластами и мезенхимными клетками. Причем данный цитокин выявлялся как эндогенно, так и экзогенно (рис. 5).

При иммуногистохимическом исследовании с применением TGF- $\beta$ 1 было выявлено, что при хроническом генерализованном пародонтите легкой степени заболевания цитокин выявлялся в меньшей степени и только макрофагами, а при средней степени его количество значительно увеличивалось соответственно тяжести повреждения за счет инфильтрирующих клеток (рис. 6, 7). В круговой связке зуба выраженность экспрессии прямо пропорционально коррелировала с тяжестью заболевания.

**Рисунок 2.**

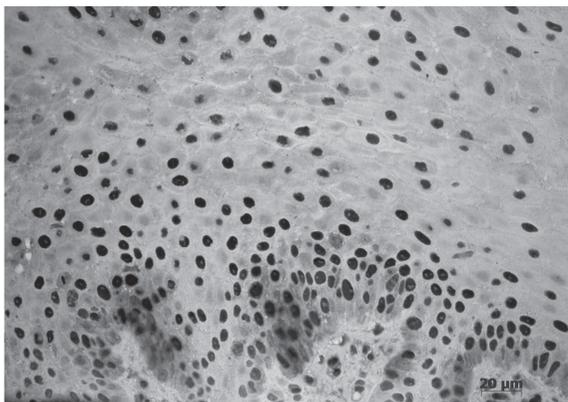
**Хронический генерализованный катаральный гингивит. Экспрессия PCNA эндотелиальными клетками капилляров сосочкового слоя собственной пластинки десны (↑). Иммуногистохимическая реакция на PCNA. Докраска гематоксилином**



Полученные данные полностью согласуются и с данными литературы. Как известно, TGF- $\beta$ 1 экспрессируется многими клетками соединительной ткани и играет ведущую роль в ее восстановлении. Экспрессия клетками этого цитокина инициирует миграцию нейтрофилов, макрофагов, моноцитов, фибробластов, индуцирует ангиогенез [3]. TGF- $\beta$ 1 стимулирует экспрессию генов и стимуляцию белков внеклеточного матрикса, одновременно блокирует процесс деградации экстрацеллюлярного матрикса и

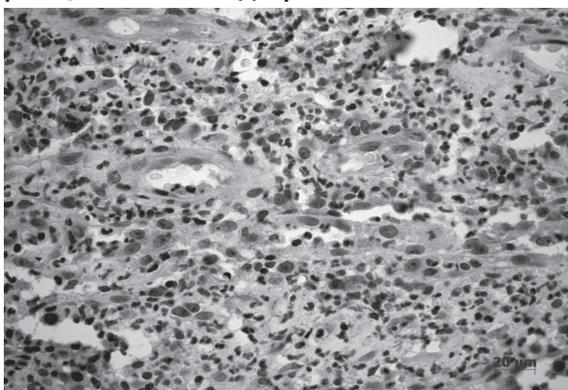
**Рисунок 3.**

Хронический генерализованный пародонтит легкой степени. Экспрессия PCNA клетками базального и шиповатого слоев эпителия десны. Иммуногистохимическая реакция на PCNA. Докраска гематоксилином



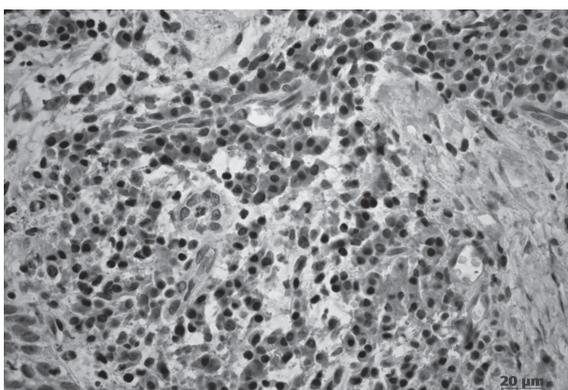
**Рисунок 4.**

Хронический катаральный гингивит. Стадия эксудации. Экспрессия TGF-b1 макрофагами в строме собственной пластинки десны. Иммуногистохимическая реакция на TGF-b1. Докраска гематоксилином



**Рисунок 5.**

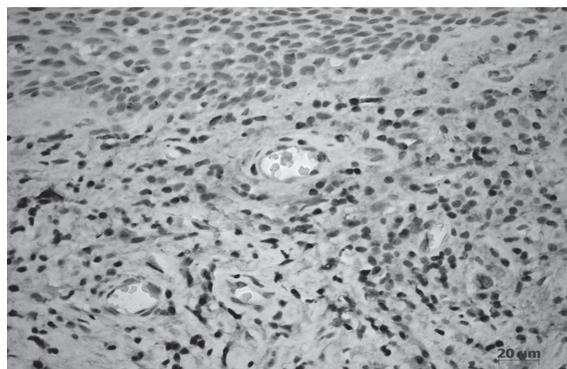
Хронический генерализованный катаральный гингивит. Стадия пролиферации. Экспрессия TGF-b1 в строме собственной пластинки десны. Иммуногистохимическая реакция на TGF-b1. Докраска гематоксилином



увеличивает уровень ингибиторов протеиназ [3]. Следовательно, является одним из основных факторов, участвовавших в развитии поствоспалительного фиброза [8, 9]. Он способствует также локальной иммунодепрессии в ткани и дезактивирует антимикробную функцию макрофагов, ингибируя продукцию цитотоксических монокинов [10]. Несмотря на то, что эти процессы способствуют репарации соединительной ткани в зоне повреждения,

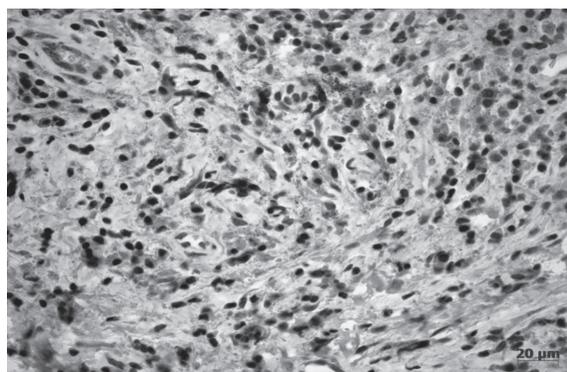
**Рисунок 6.**

Хронический локализованный пародонтит легкой степени тяжести. Экспрессия TGF-b1 макрофагами в собственной пластинке десны. Иммуногистохимическая реакция на TGF-b1. Докраска гематоксилином



**Рисунок 7.**

Хронический локализованный пародонтит средней степени тяжести. Экспрессия TGF-b1 клетками соединительной ткани: макрофагами, фибробластами, лимфоцитами, плазмочитами. Иммуногистохимическая реакция на TGF-b1. Докраска гематоксилином



часто происходит трансформация нормальной приспособительной реакции в патологическую: фиброз и склероз ткани, что мы и наблюдали при данной патологии.

Таким образом, у лиц молодого возраста при отсутствии выраженных клинических проявлений в тканях пародонта выявлялись морфологические изменения, которые обнаруживались иммуногистохимическими методами. Данная методика является наиболее чувствительной и может применяться для ранней диагностики воспалительно-деструктивных заболеваний.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Заболевания пародонта / под общей редакцией проф. Л.Ю. Ореховой. — М.: Поли Медиа Пресс, 2004. — 432 с.
2. Максимовский Ю.М., Максимовская Л.Н., Орехова Л.Ю. Терапевтическая стоматология. — М.: Медицина, 2002. — С. 452-459.
3. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. — М.: Медицина, 1995. — 224 с.
4. Серов В.В., Пауков В.С. Воспаление. — М.: Медицина, 1995. — С. 213-219.
5. Bravo R., Macdonald Bravo H. Changes in the nuclear distribution of cyclin (PCNA) but not its synthesis depend on DNA replication. EMBO J., 1985. — Vol. 4. — P. 655-661.
6. Bravo R., Macdonald Bravo H. Existence of populations of cyclin/proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle: association with DNA replication sites.// J. Cell Biol., 1987. — Vol. 105. — P. 1549-1554.
7. Bissell D.M. Hepatic fibrosis as wound repair: a progress report// J Gastroenterol— 1998. — Vol. 33, № 2. — P. 295-302.
8. Rodemann H.P., Binder A., Burger A., Guven N., Loffler H., Bamberg M. The underlying cellular mechanism of fibrosis // Kidney IntSuppl. -1996. — Vol. 54. — P.32-36.
9. Bissell D.M. Hepatic fibrosis as wound repair: a progress report// J Gastroenterol — 1998. — Vol. 33, № 2. — P. 295-302.
10. Okulov V.B., Voytenkov B.O., Ushmorov A.G. // Cancer Res. Clin. Oncol.— 1992. — Vol. 118. — P. 537-541.